



**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO**

**DETECCIÓN DE QTLS PARA MECANISMOS FISIOLÓGICOS
RELACIONADOS CON LA DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE
GRANOS EN SORGO**

Ing. Agr. Florencia Carla Spagnolli

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE MAGISTER EN GENÉTICA VEGETAL

DIRECTOR: Dr. Lucas Borrás

CO-DIRECTORA: Dra. Brenda Gambín

2014

DETECCIÓN DE QTLS PARA MECANISMOS FISIOLÓGICOS RELACIONADOS CON LA DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE GRANOS EN SORGO

Florencia Carla Spagnolli
Ingeniera Agrónoma - Universidad Nacional de Rosario

Esta Tesis está presentada como parte de los requisitos para optar al grado académico de Magister en Genética Vegetal, de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido previamente presentada para la obtención de otro título en ésta u otra Universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo por la cátedra de Sistemas de Cultivos Extensivos: Cereales y Oleaginosas de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario (UNR), durante el período comprendido entre enero de 2013 y septiembre de 2014, bajo la dirección del Dr. Lucas Borrás.

Ing. Agr. Florencia Carla Spagnolli
Maestrando

Dr. Lucas Borrás
Director

Dra. Brenda Gambín
Co-directora

Defendida: de 20_____.

A mí amada familia, mi novio y mis amigos...
sin el amor, el apoyo, la contención y el sostén de ustedes
no lo podría haber logrado

PRESENTACIONES A CONGRESOS

XXX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. 21-24 Septiembre 2014. Mar del Plata, Argentina.

“QTL para mecanismos asociados con la determinación del número de granos en sorgo”.

SPAGNOLLI, F., GAMBÍN, B.L., BORRÁS, L.

INDICE

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	6
RESUMEN	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN	9
CAPÍTULO I	14
MATERIALES Y MÉTODOS	15
Material vegetal	15
Experimento a campo	15
Mediciones fenotípicas	16
Análisis estadístico	17
RESULTADOS	19
Fenología y altura de planta.....	19
Rendimiento y número de granos	20
Tasa de crecimiento, partición reproductiva y eficiencia de fijación de granos	20
Estimación de heredabilidades	20
Correlación entre caracteres.....	23
CAPÍTULO II	25
MATERIALES Y MÉTODOS	26
Construcción del mapa genético	26
Análisis de QTL	26
RESULTADOS	29
DISCUSIÓN	32
CONCLUSIONES	36
BIBLIOGRAFÍA	37

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

BIC: “Bayesian Information Criterion”. Criterio de información bayesiana

BLUP: “Best Linear Unbiased Predictor”. Mejor predictor lineal insesgado

C-A: caracter-ambiente

cM: centimorgan

Ef_G: eficiencia en la fijación de granos

H²: heredabilidad en sentido amplio

LOD: logaritmo de Odds

NG: número de granos por metro cuadrado

PCV: prueba del cociente de la verosimilitud

PR: partición reproductiva

RIL: “Recombinant Inbred Line”. Línea recombinante

SNPs: “Single Nucleotide Polymorphism”. Polimorfismo de nucleótido simple

Stepwise: análisis de regresión por etapas

TCCa: tasa de crecimiento del cultivo alrededor de floración

TT: Tiempo Térmico

QTL: “Quantitative Trait Loci”. Loci de caracteres cuantitativos

RESUMEN

El número de granos (NG) constituye el componente que mejor explica la variabilidad en rendimiento para el cultivo de sorgo. El objetivo de este proyecto fue estudiar las bases genéticas (QTL) de este carácter en una población de 250 RILs F5 a partir de atributos secundarios ligados con su determinación. El modelo ecofisiológico utilizado considera que el NG depende de la tasa de crecimiento del cultivo alrededor de floración (TCCa), de la proporción de biomasa particionada a los órganos reproductivos (PR) y de la cantidad de granos fijados por unidad de crecimiento reproductivo (Ef_G). Estos atributos se evaluaron durante dos condiciones ambientales. Existió variabilidad fenotípica para todos los caracteres estudiados ($p < 0,001$). Variaciones en el NG estuvieron positivamente asociadas a variaciones en PR y Ef_G . Estos dos caracteres presentaron una alta heredabilidad en sentido amplio. Se detectaron un total de 12 QTL ($LOD \geq 2,5$), algunos de ellos consistentes entre ambientes para PR y Ef_G . Los QTL detectados explicaron entre 15 y 40% de la variabilidad observada. Este es el primer estudio sobre las bases genéticas en partición de biomasa y determinación de NG en sorgo, y constituye un paso relevante para entender la determinación de los factores genéticos detrás del NG y rendimiento del cultivo.

ABSTRACT

Harvested grain number is the component that best explains sorghum yield variability. The objective of my thesis was to study the genetic basis (QTL) for this trait in a population of 250 F5 RILs, together with other physiological secondary attributes associated grain number determination. The ecophysiological model considers that grain number depends on the crop growth rate around flowering (CGRa), the proportion of biomass partitioned to reproductive organs (RP) and the number of grains set per unit of reproductive growth (Ef_G). Traits were evaluated in two environmental conditions. Large phenotypic variability was evident for all studied traits ($p < 0.001$). Variability in grain number was positively associated with variability in RP and Ef_G . These two traits showed high broad heritability. Twelve QTL ($LOD \geq 2.5$) were detected, some consistent between environments for RP and Ef_G . Detected QTL explained between 15 and 40% of the observed variability. This is the first study dissecting the genetic basis of biomass partitioning and grain number determination in sorghum. It is a relevant step to understand the genetic factors behind sorghum grain number and yield.

INTRODUCCIÓN

El sorgo (*Sorghum spp.*) es un género de unas 20 especies de gramíneas oriundas de las regiones tropicales y subtropicales de África oriental. Se cultiva en su zona de origen, Europa, América y Asia como cereal para consumo animal mayormente, y para la producción de forrajes, consumo humano y otros usos muy diversos (bebidas alcohólicas y escobas). Es uno de los cultivos alimentarios más importantes del mundo, ocupando el quinto lugar después del trigo, arroz, maíz y cebada (Doggett, 1988).

La superficie implantada con el cultivo de sorgo en Argentina se ha estabilizado en los últimos años a más de un millón de hectáreas, luego de haber sufrido una reducción de la superficie de aproximadamente cinco millones de hectáreas en los últimos 40 años. El rendimiento por unidad de superficie se ha más que duplicado durante este tiempo. Parte de este incremento se debió al mejoramiento genético (Gizzi y Gambín, 2014), aunque aún se evidencia un gran potencial de mejora para los diferentes ambientes de producción. Hoy en día la Argentina se posiciona como quinto productor mundial con aprox. cinco millones de toneladas, de las cuales exporta alrededor de 2,8 millones. El rendimiento promedio logrado durante la última campaña (2013/2014) fue de 4,2 tn ha⁻¹, valor que supera a los rendimientos alcanzados por otros grandes países productores como México, Nigeria, EEUU y Australia (Barberis y Sánchez, 2013).

En el contexto del deterioro progresivo de los agro-ecosistemas el sorgo muestra una perspectiva optimista, por aportar a la sustentabilidad del suelo gracias a su elevada producción de biomasa y por presentar una alta estabilidad de rinde bajo condiciones desfavorables dado por su inherente resistencia a sequía y altas temperaturas (Rooney, 2004). A esto se le suma aspectos favorables en términos económicos (tendencia de precios similar al maíz) y comerciales (importante cantidad de usos; Miller, 2012). Se destaca asimismo el creciente mercado de la alimentación animal, humana y de los biocombustibles. Ante estas condiciones es factible esperar que el sorgo cobre mayor importancia económica para el país y que la demanda de información del cultivo aumente.

La selección de nuevas líneas e híbridos en programas de mejoramiento se basa principalmente en caracteres relativamente simples como resistencia o tolerancia a plagas y/o enfermedades, y en caracteres más complejos como rendimiento. La selección basada en rendimiento ha tenido éxito a lo largo de los años, aunque la misma implica desconocer claramente qué cambios fenotípicos ocurren simultáneamente con la selección por rendimiento (Cooper et al., 2014). En general esto se conoce después a través de estudios retrospectivos evaluando genotipos de diferente año de liberación en similares condiciones

de ambiente y manejo (Calderini et al., 1995; Sadras y Lawson, 2011 y 2012; Duvick y Cassman, 1999; Luque et al., 2006). En varios cultivos de importancia (trigo, maíz) el aumento en el rendimiento producto del mejoramiento se debió principalmente a un aumento en el crecimiento de las estructuras reproductivas y en el número de granos fijados por unidad de superficie (NG) (Calderini et al., 1995; Austin et al., 1989; Slafer y Andrade, 1989). En sorgo, el rendimiento se encuentra estrechamente correlacionado con el número de granos cosechados (NG) (Fig. 1; Sticker y Pauli, 1961; Saeed et al., 1986; Borrell et al., 2000), por lo que es posible que la mejora por rendimiento haya favorecido al aumento de este componente.

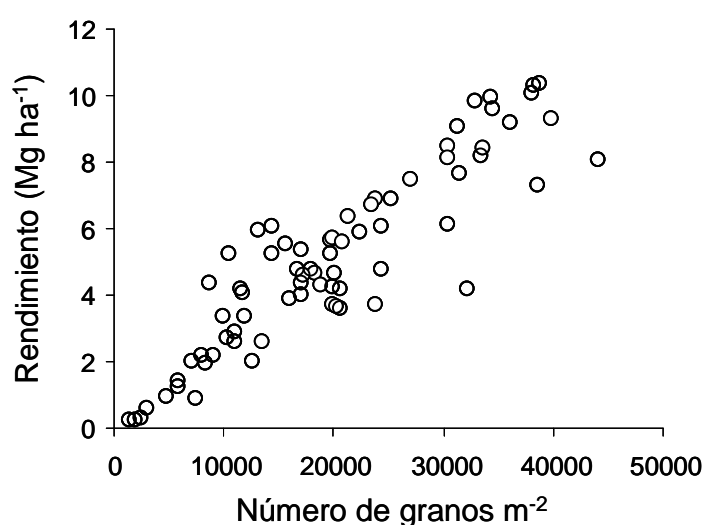


Fig. 1. Relación entre el rendimiento y el número de granos por unidad de área en sorgo. Datos tomados de Sticker y Pauli, 1961; Saeed et al., 1986; Borrell et al., 2000.

No existen dudas que la biología molecular ha tenido éxito a la hora de asistir al mejoramiento para caracteres cualitativos como la liberación de genotipos resistentes y/o tolerantes a plagas o herbicidas. Esto se logró vía transformaciones de genes simples que escalan bien desde su expresión molecular al nivel de planta y cultivo. Sin embargo, cuando los caracteres a mejorar son complejos (como NG o rendimiento), las interacciones gen x gen y gen x ambiente cobran mayor influencia sobre el fenotipo (Podlich et al., 2004). Esta es una gran limitación a la que se enfrenta el mejoramiento asistido por marcadores para rendimiento y estabilidad. Tanto el NG como el rendimiento son caracteres cuantitativos que se encuentran bajo control multi-génico, tienen baja heredabilidad y una alta interacción genotipo x ambiente, lo que dificulta la selección de marcadores ligados a estos caracteres en los programas de mejoramiento (Chapman et al., 2000).

Los estudios que han intentado detectar QTL para NG a madurez en poblaciones de sorgo son limitados. Rami et al. (1998) localizaron QTL para número de granos por planta y otros caracteres complejos en sorgo. Sin embargo, el estudio estuvo limitado a un único ambiente lo que disminuye su utilidad. Frecuentemente, los QTL que han sido asociados a caracteres complejos en un ambiente determinado no han sido detectados cuando el estudio se repitió en otro ambiente (Austin y Lee, 1998, como ejemplo en maíz). Esto reduce notoriamente la validez de los QTL detectados. La disección de un carácter complejo a caracteres más simples y de mayor heredabilidad constituye una opción para estudiar las bases genéticas de un carácter complejo como ser la determinación del NG y el rendimiento del cultivo (Slafer, 2003).

La aproximación “fenotipo a genotipo” o “top-down” implica estudiar el fenotipo y disecarlo en caracteres más simples donde después se realizará el análisis genético (Hammer et al., 2005; Tardieu, 2003; Slafer, 2003). El carácter debe ser heredable, lo que implica que las variaciones fenotípicas deben estar mayormente explicadas por variaciones genotípicas y en menor medida por variaciones relacionadas con el ambiente (Kearsey y Pooni, 1996). Estudiando la tasa de expansión de hojas de maíz Raymond et al. (2003) demostraron que el análisis genético no debe realizarse sobre el producto final (en su estudio particular expansión foliar) sino sobre los procesos fisiológicos que modulan la respuesta del producto final al ambiente. Usando esta aproximación estos autores pudieron predecir el fenotipo (tasa de expansión foliar) a partir de datos genotípicos para un amplio rango de condiciones ambientales. Para lograr esto se requiere un modelo que incluya los procesos que conectan el ambiente con el producto final, a la vez que identifique parámetros o caracteres claves que explican las diferencias entre genotipos sobre los cuales realizar el análisis de QTL.

La determinación del NG o rendimiento a partir de caracteres más simples ha sido objetivo de estudio en diversos cultivos (Egli, 1998; Andrade et al., 1999; Vega et al., 2001; van Oosterom y Hammer, 2008). En general todos se basan en el concepto propuesto por Charles-Edwards (1984). Este modelo es muy útil para entender la determinación del NG a nivel de cultivo. El mismo considera todos los factores ambientales que influyen en este componente, relaciona las partes de las plantas involucradas en su determinación y permite tener en cuenta diferencias entre genotipos (Vega et al., 2001):

$$NG = TCCa * PR * Ef_G \quad (1)$$

Así, el NG depende: (i) de la tasa de crecimiento de la planta o cultivo alrededor de floración (TCCa), (ii) de cuánto de ese crecimiento se destina a las estructuras reproductivas (i.e., partición reproductiva, PR), y (iii) de cuántos granos se fijan por unidad de crecimiento reproductivo (i.e., Eficiencia de fijación de, Ef_G). Mientras que la TCCa se focaliza en la captación de recursos o asimilados y está muy influenciada por el ambiente, la PR y la Ef_G están más relacionadas con el uso de los mismos por parte del cultivo. Existen evidencias en sorgo de que la PR y la Ef_G serían parámetros genotípicamente estables (van Oosterom y Hammer, 2008; Gambín y Borrás, 2013).

La PR varía entre genotipos de sorgo (Blum et al., 1997; van Oosterom y Hammer, 2008; Gambín et al., 2010), y en general se encuentra negativamente correlacionada con la altura de planta (Blum et al., 1997; George-Jaeggli et al., 2011). A diferencia de la TCCa, la PR sería un carácter estable para un genotipo particular en diferentes condiciones ambientales (van Oosterom y Hammer, 2008; Gambín y Borrás, 2013). Esto sugiere que la PR tendría alta heredabilidad y podría tener una base genética. Al presente no hay estudios que hayan explorado las bases genéticas de la partición reproductiva en sorgo.

La Ef_G también varía entre genotipos de sorgo (Gambín et al., 2010; Gambín y Borrás, 2013) y otras especies (Acreche et al., 2008; Echarte y Tollenaar, 2006). En sorgo, estas variaciones están relacionadas con el tamaño del grano. Genotipos con mayor Ef_G en general tienen menor peso de grano individual (Gambín y Borrás, 2013). Esta relación es acorde con las crecientes evidencias de que NG se define conjuntamente con el peso de grano potencial, generando un *trade-off* entre ambos para la misma cantidad de recursos (Gambín et al., 2006; Sadras, 2007; Gambín et al., 2010). Asimismo, es acorde con el concepto de Charles-Edward (Gambín et al., 2010), que originalmente en su modelo indica un mínimo requerimiento para fijar un grano en lugar de su inversa, la Ef_G . Este mínimo requerimiento, estimado como el peso de grano, mostró una fuerte asociación negativa con el NG entre genotipos de soja (Egli, 1998). Existen evidencias de que el peso de grano es un carácter de alta heredabilidad (Sadras, 2007; Gambín y Borrás, 2011). Las bases genéticas del tamaño del grano en sorgo aún no se han sido exploradas, menos englobadas en el concepto de su determinación conjunta con el NG.

En resumen, en la presente tesis se pretende aprovechar un modelo ecofisiológico de determinación del NG ampliamente difundido, con el fin de estudiar las bases genéticas detrás de este carácter complejo. En general, este modelo fenotípico ha sido muy usado para estudiar diferencias en la determinación del NG entre genotipos ya que se basa en caracteres de alta heredabilidad. Aquí se pretende extender el clásico análisis fenotípico a un análisis de QTL. Se pretende generar información de utilidad para el mejoramiento.

Objetivo general:

Estudiar las bases genéticas (QTL) detrás de dos caracteres reproductivos (PR y Ef_G) asociados con la determinación del NG en una población de sorgo granífero.

Objetivos específicos:

1. Explorar la variabilidad fenotípica en una población de RILs de sorgo para:
 - a. Partición reproductiva (PR).
 - b. Eficiencia de fijación de granos (Ef_G).
2. Realizar un análisis genético para la detección de QTL asociados con cada caracter del modelo ecofisiológico planteado.

Cada uno de objetivos específicos es abordado en un capítulo aparte.

CAPITULO I

Objetivo específico 1:

Explorar la variabilidad fenotípica en una población de RILs de sorgo para:

- a. Partición reproductiva (PR).
- b. Eficiencia de fijación de granos (Ef_G).

Hipótesis:

Existe variación fenotípica en PR y Ef_G .

No hay relación entre estos caracteres, por lo que es posible encontrar genotipos de similar NG a partir de diferentes combinaciones de PR y Ef_G .

MATERIALES Y MÉTODOS

a. Material vegetal

Se utilizó una población biparental de RILs de sorgo de 250 líneas F_5 y sus padres (IS8525 Y 31945-2-2), proporcionadas por el DPI (Departamento de Industrias Primarias, Queensland, Australia) a través de un Material Transfer Agreement entre el DPI y la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR. El número de individuos evaluados es un aspecto importante en estudios de detección de QTL para caracteres complejos (Bernardo, 2008). La mayoría de los estudios previos detectando las bases genéticas de caracteres complejos en sorgo raramente superaban los 150 genotipos (Rami et al., 1998; Brown et al., 2006; Srinivas et al., 2009).

Se conocía que las RILs mostraban gran variabilidad en algunos de nuestros caracteres de interés. Unas 134 RILs fueron previamente caracterizadas durante dos años y manifestaron una importante variabilidad en altura total de planta (85 a 197 cm), altura a última lígula (51 a 153 cm), largo de pedúnculo (2 a 25 cm) y largo de panoja (15 a 31 cm) (datos Tesis Doctoral Barbara George-Jaeggli, Queensland, Australia, 2009).

b. Experimentos a campo

La población fue sembrada a campo en dos estaciones de crecimiento correspondientes a las campañas 2010/2011 y 2011/2012. De aquí en adelante cada campaña se referirá al año de siembra (2010 y 2011). Los experimentos se llevaron a cabo en el Campo Experimental Villarino, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario, en Zavalla, Argentina (33°01 S, 60°52 O).

Los suelos son de tipo franco arcilloso limoso, Argiudol Vértico (Soil Taxonomy, Soil Survey Staff 2010). Los ensayos se sembraron con una sembradora de conos experimental en un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Cada repetición consistió en dos surcos de 0,52 m de distancia y 5,5 m de largo. La siembra tuvo lugar el 21 de octubre de 2010 y el 26 de octubre de 2011. Las parcelas fueron sobre-sembradas y después de la emergencia se las raleo a la densidad objetivo de 200.000 plantas ha^{-1} . Los ensayos se mantuvieron libres de malezas, plagas y enfermedades.

A la siembra se aplicaron 120 kg ha^{-1} de MAP durante ambos experimentos. Sólo en 2010 se aplicó N en pre-siembra incorporado. El fertilizante aplicado fue SOLMIX (28% de N). Se registraron datos diarios de temperatura y precipitaciones durante el ciclo a través de una estación meteorológica ubicada aprox. a 100 m de los experimentos.

c. Mediciones fenotípicas

La antesis fue registrada cuando el 50% de las plantas en cada parcela mostraba al menos una antera visible. En madurez, se midió en cada parcela la altura total (desde la base del suelo hasta la punta de panoja) de cinco plantas consecutivas al azar.

Se realizaron dos cortes de $0,5 \text{ m}^2$ de biomasa total aérea por parcela durante el período de determinación del NG. Los mismos tuvieron lugar ca. 15-20 días previos y 10 días después de antesis (Pepper y Prine, 1972; Gambín et al., 2008). En el corte de post-antesis las panojas fueron separadas del resto de la planta. Los macollos fueron tratados igual que al tallo principal. Para la determinación del peso seco las muestras fueron secadas en una estufa de aire forzado por un mínimo de siete días a una temperatura de 60°C .

En madurez de cosecha se estimó el rendimiento final y el NG por parcela a partir de una superficie de cosechar 1 m^2 . Las panojas fueron trilladas usando una trilladora estática y se estimó el NG a partir del peso de una alícuota de 200 granos por muestra. Todas las muestras fueron sujetas a análisis de humedad utilizando un humedímetro (Tesda Campo) para la posterior corrección a peso seco. A partir de la alícuota también se estimó el peso individual medio del grano.

La TCCa ($\text{g m}^{-2} \text{ }^\circ\text{Cd}^{-1}$) se estimó como el cociente entre la biomasa total aérea acumulada (g m^{-2}) entre el corte pre y post-antesis, y el tiempo térmico (TT; $^\circ\text{Cd}$) acumulado entre ambos (temperatura base 11°C ; Hammer et al., 1993).

La PR ($^\circ\text{Cd}^{-1}$) fue calculada siguiendo a Gambín y Borrás (2013):

$$\text{PR} = \text{biomasa reproductiva} / \text{TCCa} \quad (2)$$

donde la biomasa reproductiva representa el peso seco de panojas 10 días después de antesis (g m^{-2}) y la TCCa es la tasa de crecimiento del cultivo alrededor de antesis ($\text{g m}^{-2} \text{ }^\circ\text{Cd}^{-1}$). Como criterio las panojas se cortaron 1 cm por debajo de la inserción de la primera espiguilla, independientemente de que fueran o no fértiles.

La Ef_G se estimó como la inversa del peso individual medio del grano, considerando a este como el mínimo requerimiento necesario para fijar un grano (Egli, 1998):

$$\text{Ef}_\text{G} = 1 / \text{peso individual medio del grano} \quad (3)$$

d. Análisis estadístico

La variabilidad de cada carácter (TT a antesis, altura de planta, rendimiento, NG, TCCa, PR y Ef_G) fue analizada ajustando un modelo lineal mixto generalizado (Proc GLM; SAS Institute, 1999). Este modelo incluyó ambientes (años), bloque anidado dentro de ambiente, genotipos y la interacción genotipo x ambiente. El ambiente y el bloque dentro del ambiente fueron considerados efectos fijos, mientras que el genotipo y la interacción genotipo x ambiente fueron considerados efectos aleatorios (Álvarez Prado et al., 2013). Además, para cada carácter se calculó el coeficiente de variación (CV) como la relación entre el desvío estándar y la media de la población.

A cada carácter se le calculó la heredabilidad en sentido amplio como:

$$H^2 = \sigma^2_G / [\sigma^2_G + (\sigma^2_{GE} / \eta) + \sigma^2_e / r \eta] \quad (4)$$

siendo σ^2_G la variancia genotípica, σ^2_{GE} la variancia de la interacción genotipo x ambiente, σ^2_e la variancia residual de la parcela, y η y r son el número de ambientes y repeticiones, respectivamente (Hallauer y Miranda, 1988).

En segundo lugar, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson “r” para medir el grado de asociación entre los atributos. Estas correlaciones fueron realizadas con las medias fenotípicas de los genotipos para cada carácter.

Los datos fenotípicos de NG, TCCa, PR y Ef_G fueron analizados utilizando un modelo lineal mixto multi-carácter multi-ambiente (Malosetti et al., 2008). El conjunto de datos consistió de I genotipos, evaluados en J ambientes con mediciones sobre K caracteres repetidos en L bloques ($I = 250$, $J = 2$, $K = 4$ y $L = 3$). Se definió un vector “y” $N \times 1$, con $N = IJKL$ que contiene todas las observaciones ordenadas por carácter dentro de cada ambiente y dentro de cada genotipo para cada bloque. Dado que el interés se encuentra en la variación genética dentro de la población más que en los genotipos *per se*, los genotipos se asumieron como aleatorios. La combinación carácter-ambiente (C-A) y los bloques anidados dentro de la combinación C-A fueron considerados como factores fijos. El modelo lineal mixto queda representado con la siguiente ecuación:

$$Y = X\beta + Zu + \varepsilon \quad (5)$$

donde Y es el vector de la observación fenotípica, β representa un vector de efectos fijos debido a la combinación de C-A y de bloques anidados dentro de la combinación C-A, mientras que u y ε son los vectores de los efectos aleatorios debido a los genotipos y a los

residuales, respectivamente. X y Z son matrices identidad de 1s y 0s asociadas con los efectos fijos y aleatorios, respectivamente. El vector β contiene las medias de los caracteres dentro de los ambientes a través de los genotipos y las medias de los bloques dentro de la combinación C-A. El vector u denota los efectos genotípicos aleatorios para cada combinación de C-A. Los efectos genotípicos aleatorios se asumen normalmente distribuidos $u \sim N(0, G)$, siendo G una matriz de bloques diagonales con 8×8 parámetros de variancia-covariancia. Finalmente, ϵ es un vector de residuales no genéticos asociados con cada observación y normalmente distribuidos $\epsilon \sim N(0, R)$ siendo R la variancia residual (σ^2_{ijk}). La covariancia fenotípica está dada por:

$$V(y) = ZGZ' + R \quad (6)$$

La diagonal de la matriz G incluye las varianzas genéticas de cada combinación de C-A y fuera de la diagonal las covarianzas genética entre cada par de C-A para el mismo genotipo. Como señalaron Malosetti et al. (2008) los efectos genéticos aleatorios no serán independientes a través de ambientes si existen genes/QTL con efectos estables en esos ambientes. Además, los efectos genéticos para los diferentes caracteres no serán independientes si los genes/QTL están ligados o existen pleiotropía. Frecuentemente, los efectos de los QTL a través de los ambientes no son iguales en magnitud e incluso, a veces, tampoco lo son en signo, dando lugar a varianzas genéticas heterogéneas. De esta manera, se asumieron diferentes estructuras de varianzas y covarianzas para la matriz G , con el objetivo de seleccionar la más adecuada para esta base de datos. Todos los modelos asumidos para esta matriz consideran la combinación factorial de caracteres y ambientes, interpretando cada combinación C-A como un caracter por sí mismo. Con $J=2$ ambientes y $K=4$ caracteres, podemos definir un total de $M=8$ “nuevos caracteres” ($M = JK$). Basándonos en el criterio de información bayesiano (su sigla en inglés BIC) (Schwarz, 1978), se seleccionó el mejor modelo. Este criterio penaliza la bondad de ajuste por el número de parámetros de variancia-covariancia que utiliza el modelo; cuando menor es el valor de BIC, mejor es el modelo. A partir de este criterio se decidió utilizar el modelo de simetría compuesta heterogénea (HCS). Este modelo estima diferentes parámetros de variancia para cada combinación C-A, y utiliza las raíces cuadradas de esos parámetros para las covarianzas. El mismo conserva covarianzas constantes a través de todos los pares de combinaciones de C-A (SAS Institute, 1999 Cary, NC). A partir del modelo se estimó el mejor predictor lineal insesgado (BLUP) para cada genotipo en cada ambiente (Borevitz et al., 2002; Zalapa et al., 2007).

RESULTADOS

a. Fenología y altura de planta

Los padres de la población no difirieron en el tiempo a antesis (Tabla 1), mientras que la antesis en la población de RILs varió desde 627 a 1074 °Cd en el 2010, y desde 735 a 1063 °Cd en el 2011 ($p < 0,001$; Tabla 1). En días, este rango fue de 63 a 96 días en 2010, y de 66 a 89 días en 2011. Aunque el rango entre los genotipos extremos fue importante (alrededor de un mes), más del 95% de los genotipos floreció en el rango de dos semanas ambos años (Fig. 2). Del total de variación fenotípica, el 35% estuvo asociada a variación entre genotipos, el 53% a variación entre ambientes, y sólo el 4% a interacción genotipo x ambiente (Tabla 1).

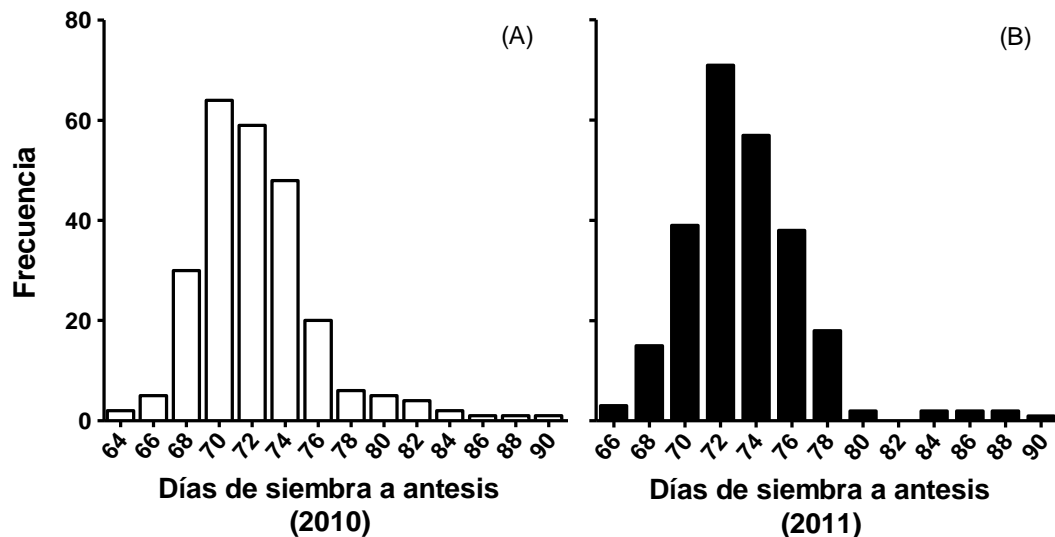


Fig. 2. Histogramas de frecuencia para días de siembra a antesis para 250 Rils en (A) el ambiente 2010 y (B) el ambiente 2011.

La línea parental 31945-2-2 mostró menor altura de planta que IS8525 ($p < 0,001$; Tabla 1). Las RILs también difirieron en su altura final ($p < 0,001$; Tabla 1). El rango observado varió desde 63 a 187 cm en 2010, y de 65 a 187 cm en 2011. Del total de la variación fenotípica observada, el 55% fue variación genotípica, el 4% fue variación dada por el ambiente y el 3% fue variación por interacción genotipo x ambiente (Tabla 1).

b. Rendimiento y número de granos

El rendimiento promedio de la población de RILs fue de 3174 kg ha⁻¹ en 2010 y de 4228 kg ha⁻¹ en 2011, lo que demuestra la variación entre ambientes explorado. Las líneas

parentales difirieron en rendimiento final ($p < 0,01$; Tabla 1), siendo IS8525 más rendidora que 31945-2-2 ambos años. El rendimiento también difirió entre las RILs ($p < 0,001$; Tabla 1), variando desde 437 a 8136 kg ha⁻¹ en 2010, y desde 1361 a 9520 kg ha⁻¹ en 2011.

La misma tendencia se observó para NG. La línea parental IS8525 mostró un mayor NG que 31945-2-2 en ambos años ($p < 0,01$; Tabla 1). El NG en la población de RILs varió desde 2135 a 28138 granos m⁻² y desde 6117 a 54118 granos m⁻² en 2010 y 2011, respectivamente ($p < 0,001$; Tabla 1).

Para ambas caracteres, cerca del 13% de la variación estuvo explicada por variación entre genotipos, el ca. 30% a variación ambiental y 12% a variación dada por la interacción genotipo x ambiente (Tabla 1).

c. Tasa de crecimiento, partición reproductiva y eficiencia de fijación de granos

La línea parental IS8525 mostró mayor TCCa que 31945-2-2 ambos años ($p < 0,01$; Tabla 1). La TCCa entre las RILs varió desde 0,69 a 3,53 g m⁻² °Cd⁻¹ en 2010 y desde 0,96 a 2,37 g m⁻² °Cd⁻¹ en 2011 ($p < 0,001$; Tabla 1). Del total de variación fenotípica, el 19% correspondió a variación entre genotipos, el 3% a variación entre ambientes y sólo el 3% a variación dada por la interacción genotipo x ambiente (Tabla 1). A pesar de la relativa importante variación entre genotipos, para este carácter particular es notoria la alta variación residual.

En cuanto a PR, la línea parental 31945-2-2 se caracterizó por tener una mayor PR que IS8525 ($p < 0,05$; Tabla 1). Las RILs difirieron en PR ($p < 0,001$; Tabla 1), siendo el rango observado desde 32 a 166 °Cd⁻¹ (2010) y de 41 a 164 °Cd⁻¹ (2011). El 38% de esta variación estuvo explicada por el genotipo, el 10% por el ambiente y el 4% por interacción genotipo x ambiente (Tabla 1).

Finalmente, las líneas parentales no mostraron diferencias significativas en Ef_G, mientras que las RILs difirieron ampliamente para este carácter ($p < 0,001$; Tabla 1). La Ef_G varió desde 30 a 54 granos g⁻¹ (2010) y desde 35 a 62 granos g⁻¹ (2011). El 33% de esta variación estuvo asociada al genotipo, el 11% a variación ambiental y el 9% a interacción genotipo x ambiente (Tabla 1).

Como fuera hipotetizado, la PR y la Ef_G mostraron una mayor proporción de la variación asociada a diferencias entre genotipos relativa a la variación dada por la interacción.

d. *Estimación de heredabilidades*

Los coeficientes de variación para todos los caracteres mostraron valores menores a 30%, lo que permitió realizar cálculos relativamente precisos de heredabilidad. El TT a anthesis mostró una alta heredabilidad en sentido amplio (0,92), al igual que la altura (0,88), la PR (0,78) y la Ef_G (0,73). La TCCa mostró una heredabilidad intermedia (0,57). Los valores de heredabilidad para rendimiento y NG fueron de 0,42 y 0,48, respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Tiempo térmico (TT) a antesis, altura de planta, rendimiento, número de granos por metro cuadrado (NG), tasa de crecimiento del cultivo alrededor de floración (TCCa), partición reproductiva (PR) y eficiencia de fijación de granos (Ef_G) entre líneas parentales (31945-2-2 y IS8525) y medias, mínimos y máximos de las 250 RILs de la población bajo dos condiciones ambientales (2010 y 2011). Se detallan los coeficientes de variación y valores de heredabilidad para cada caracter.

Ambiente	Genotipo	TT a antesis (°Cd)	Altura de planta (cm)	Rendimiento (kg ha ⁻¹)	NG (granos m ⁻²)	TCCa (g m ⁻² °Cd ⁻¹)	PR (°Cd ⁻¹)	Ef _G (granos g ⁻¹)
2010	R931945-2-2	796	83	2474	10354	1,57	92	42
	IS8525	883	147	3115	12081	2,17	77	39
	Media	749	107	3236	13552	1,61	94	42
	Min	627	62	437	2135	0,69	32	30
	Max	1074	187	8136	28138	3,53	166	54
2011	R931945-2-2	975	81	1911	8004	1,32	99	42
	IS8525	966	163	3934	16038	1,74	61	41
	Media	838	112	4678	20921	1,56	106	44
	Min	735	65	1361	6117	0,96	41	35
	Max	1063	183	9520	54118	2,37	164	62
CV (%)		3	12	29	29	22	21	8
H ² ±DE		0,92±0,01	0,88±0,01	0,42±0,08	0,48±0,07	0,57±0,05	0,78±0,02	0,73±0,03
% Var Gen ^a		35	55	11	13	19	38	33
% Var Amb		53	4	27	32	3	10	11
% Var Gen*Amb		4	3	12	12	3	4	9
% Var Res		8	38	50	43	75	48	47

^a Proporción de la variación fenotípica explicada por: variancia genética (Gen), variancia ambiental (Amb), variancia de la interacción genotipo x ambiente (Gen*Amb) y variancia residual (Res).

e. Correlación entre caracteres

La matriz de correlación permitió explorar y confirmar la correlación entre los caracteres evaluados (Tabla 2). El rendimiento mostró una fuerte correlación con el NG. Llamativamente, también estuvo positivamente correlacionado con la PR, mientras que no mostró correlación con la TCCa o la Ef_G (Tabla 2). El NG también mostró una correlación positiva con la PR y en menor medida con la Ef_G, mientras que no se correlacionó con la TCCa (Fig. 3). La TCCa y la PR, a su vez, estuvieron negativamente correlacionados mientras que hubo cierta correlación positiva entre la PR y la Ef_G (Tabla 2).

La TCCa estuvo positivamente correlacionada con la altura de planta, aunque se observó una importante variación en TCCa para genotipos de similar altura de planta (Tabla 2; Fig. 4A). Genotipos de mayor altura también mostraron menor PR (Tabla 2) a pesar de que también se observó una importante variabilidad en PR para genotipos de similar altura de planta (Fig. 4B). Las líneas de mayor altura se correlacionan con ciclos más largos, aunque en general las correlaciones entre la fenología y el resto de los caracteres resultaron de baja magnitud.

Tabla 2. Matriz de correlaciones (método Pearson) entre los caracteres tiempo térmico (TT) a antesis, altura de planta, rendimiento, número de granos por metro cuadrado (NG), tasa de crecimiento del cultivo alrededor de floración (TCCa), partición reproductiva (PR) y eficiencia de fijación de granos (Ef_G) para dos condiciones ambientales (2010 y 2011).

	Año	TT a antesis	Altura de planta	Rendimiento	NG	TCCa	PR
Altura de planta	2010	0,18 **					
	2011	0,20 **					
Rendimiento	2010	-0,14 *	-0,01				
	2011	-0,19 **	0,08				
NG	2010	-0,14 *	-0,06	0,95 ***			
	2011	-0,17 *	0,13	0,94 ***			
TCCa	2010	0,24 ***	0,45 ***	0,08	0,04		
	2011	0,40 ***	0,49 ***	0,09	0,10		
PR	2010	-0,37 ***	-0,43 ***	0,32 ***	0,39 ***	-0,37 ***	
	2011	-0,45 ***	-0,44 ***	0,37 ***	0,39 ***	-0,38 ***	
Ef _G	2010	-0,11	-0,07	-0,12	0,12	-0,05	0,15 *
	2011	-0,07	0,15	0,10	0,37 ***	0,05	0,10

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

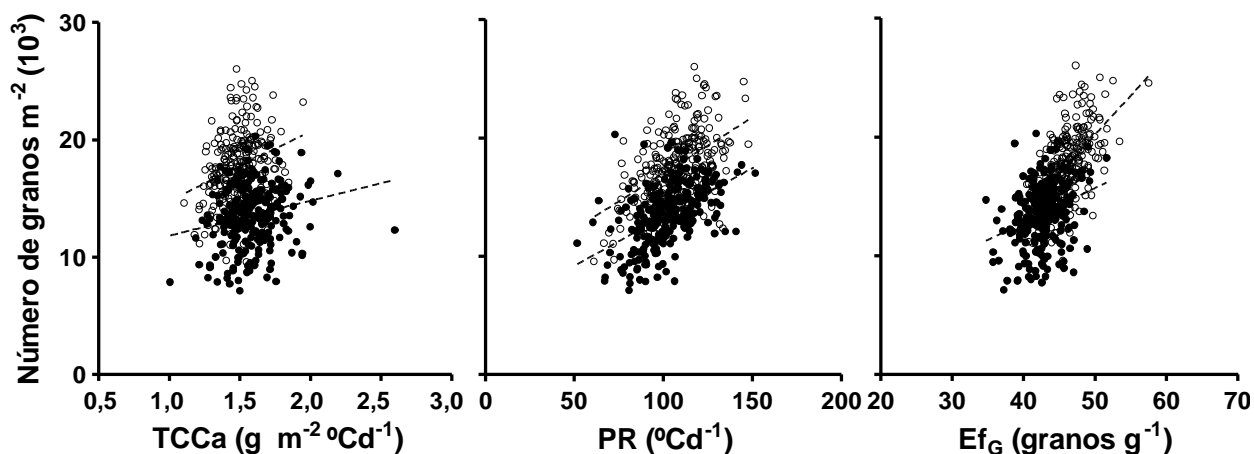


Fig. 3. Relaciones entre los mejores predictores lineales insesgados (BLUP) de número de granos por metro cuadrado y tasa de crecimiento de los cultivos alrededor de floración (TCCa), partición reproductiva (PR) y eficiencia de fijación de granos (Ef_G) para 250 RILs. Valores correspondientes a 2010 (círculos cerrados) y 2011 (círculos abiertos).

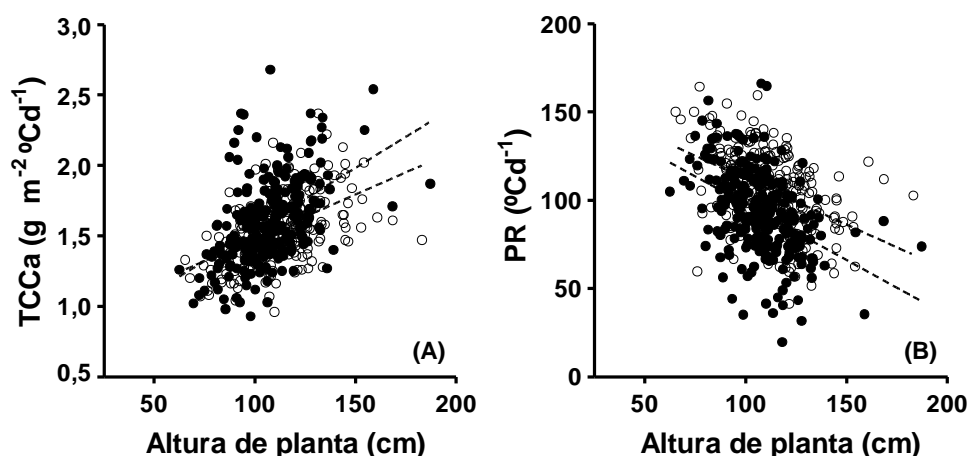


Fig. 4. Relaciones entre la altura de planta y (A) tasa de crecimiento de los cultivos alrededor de floración (TCCa), (B) partición reproductiva (PR) para 250 RILs. Valores correspondientes a 2010 (círculos cerrados) y 2011 (círculos abiertos).

En resumen, los resultados del presente Capítulo I indican que la PR y la Ef_G son atributos positivamente ligados con la determinación del NG en sorgo cuando se comparan diferentes genotipos, y ambos presentan alta heredabilidad. Es posible encontrar una importante variación en PR independiente de la altura de planta.

La información fenotípica muestra que esta población de RILs es de utilidad para explorar las bases genéticas detrás de ambos caracteres, aspecto que se aborda en el Capítulo II.

CAPITULO II

Objetivo específico 2:

Realizar un análisis genético para la detección de QTL asociados con cada caracter del modelo ecofisiológico planteado.

Hipótesis:

Es posible detectar QTL para los caracteres PR y Ef_G , ya que los mismos son atributos de alta heredabilidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

a. Construcción del mapa genético

La información genética (marcadores moleculares) fue provista, al igual que la población, por el Dr. David Jordan (Departamento de Industrias Primarias, Queensland, Australia). El genotipado de la misma fue realizado por la empresa Diversity Arrays Technology Pty Ltd (con base en Canberra, Australia), por medio de la tecnología de genotipado por secuenciación conocida como DArTseq (<http://www.diversityarrays.com/>).

La planilla original contaba con aproximadamente 30.000 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*). La misma presentaba información acerca del cromosoma en el cual se encontraba cada SNP, su secuencia de bases y su posición física. Se contaba con 3 repeticiones del padre IS8525, 5 repeticiones del padre R931945-2-2 y la información de las sucesivas líneas. Entre esta información había una gran cantidad de marcadores monomórficos, marcadores repetidos y marcadores con errores en alguna de las repeticiones de los parentales, por lo que en primer lugar se realizó una limpieza, selección y ordenamiento manual de los mismos. En segundo lugar, se procedió a recodificar la información de cada una de las líneas para cada marcador, de manera de contar solo con dos variantes alélicas. Si el genotipo portaba el alelo proveniente del parental IS8525, este se identificaba con la letra "A". Si, en cambio, el genotipo portaba el alelo proveniente del parental R931945-2-2, lo identificaba con la letra "B".

En tercer lugar, se verificó la segregación mendeliana 1:1 a través de χ^2 (Chi-Cuadrado) (Kearsey y Pooni, 1996) y aquellos marcadores que presentaban una distorsión a lo esperado según Mendel fueron descartados. Del total de SNPs disponibles 671 mostraron la segregación esperada, con los cuales se construyó el mapa de ligamiento final.

Para la construcción de este mapa genético se tuvo en cuenta en que cromosoma se encontraba cada marcador a partir de la base de datos original. Sin embargo, la posición genética dentro de cada cromosoma fue estimada utilizando el software MapDisto V1.7 (Lorieux, 2007). De esta forma se calcularon las frecuencias de recombinación entre marcadores usando un $r=0.5$ y un $\text{LOD}=3$, y se estimaron las distancias genéticas a partir de la función de Kosambi (Kosambi, 1943).

b. Análisis de QTL

Las medias fenotípicas calculadas anteriormente con los modelos mixtos (BLUP), fueron utilizadas para el mapeo de QTL, en el que se prueba el efecto de una región genómica particular sobre el fenotipo. A su vez, los marcadores moleculares ofrecen

información a nivel del ADN para cada genotipo. De esta manera, los QTL serán identificados por pruebas de asociación entre los polimorfismos en el nivel de ADN con la variación en el nivel fenotípico (Malosetti et al., 2008).

Basándose en la ecuación 5, se definió un modelo que incluye a un posible QTL, siendo:

$$Y = X\beta + X^{QTL}\alpha + \varepsilon \quad (7)$$

donde X^{QTL} es una matriz identidad, la cual proviene de la información de marcadores moleculares. El término α es un vector fijo con dimensión $M \times 1$ y contiene el efecto genético aditivo del QTL para todos los caracteres en cada ambiente. Finalmente, la extensión del modelo de un único QTL al modelo de múltiples QTL está dado por:

$$y = X\beta + \sum_Q X_q^{QTL}\alpha + \varepsilon \quad (8)$$

Este análisis se llevó a cabo en dos pasos principales, utilizando el programa WinQTL Cartographer V2.5 (Wang et al., 2011). En primer lugar, se realizó un escaneo amplio de todo el genoma usando un modelo de un único QTL, para lo cual se utilizó el procedimiento de mapeo multi-carácter, el cual permite trabajar con caracteres conjuntos considerando las correlaciones entre caracteres y ambiente; este procedimiento utiliza mapeo por intervalos compuestos, se usó el análisis de regresión stepwise del modelo 6 del programa; se estableció un umbral de 0,05 para el ingreso y egreso de QTL putativos para ser utilizados como cofactores. El umbral para declarar la presencia de un QTL conjunto significativo fue de $LOD = 6$, con intervalos de escaneos de 1 cM entre el marcador y el QTL putativo. La posición más probable del QTL fue asignada a los puntos donde el valor de LOD era máximo. Las posiciones de los QTL detectados en el primer paso fueron consideradas como QTL candidatos y constituyeron el modelo inicial para el paso número dos del análisis, en el cual se construyó un modelo multi-QTL para calcular los efectos y significancias de cada QTL en un único modelo y las posibles interacciones entre los mismos; para esto, se utilizó el procedimiento de mapeo de múltiples caracteres en múltiples intervalos (MT-MIM). Partiendo de un modelo inicial, el procedimiento estimó los parámetros del modelo, refinó las posiciones de los QTL dentro del intervalo, testeó la significancia de todos los parámetros usando un $LOD = 2,5$ para caracteres individuales, buscó nuevos QTL e interacciones epistáticas, y finalmente calculó la variancia genética explicada por el modelo (Basten et al., 2004).

Cada vez que el modelo fue refinado se realizó la prueba del cociente de la verosimilitud para determinar si el cambio en el modelo era significativo (Kao, 1999):

$$PCV = 2(\log L_1 - \log L_0) \quad (9)$$

donde L_1 y L_0 son la verosimilitud del modelo refinado y el modelo original, respectivamente. La diferencia entre los logaritmos de la verosimilitud fue multiplicada por dos para generar una distribución chi-cuadrado. Luego, para determinar si la diferencia entre los dos modelos es estadísticamente significativa se utilizó el estadístico chi-cuadrado. Los grados de libertad para la prueba eran iguales a la diferencia entre el número de parámetros entre el modelo final refinado y el modelo inicial.

RESULTADOS

En primer lugar, usando el procedimiento multi-carácter-multi-ambiente se identificaron diez QTL conjuntos. Estas diez posiciones detectadas en el análisis conjunto fueron consideradas como QTL candidatos y constituyeron el punto de partida para la generación del modelo final de multi-QTL (segundo paso del procedimiento). Ninguno de los diez QTL candidatos fue eliminado cuando se los evaluó en dicho modelo. Además, se detectaron dos nuevos QTL significativos, mientras que no se detectaron interacciones epistáticas que fueran significativas para nuestro modelo de multi-QTL.

De esta manera, el modelo multi-QTL final consistió de 12 QTL localizados en los cromosomas 1, 2, 4, 6, 7, 8 y 9.

Para cada uno de los doce QTL, se calculó el efecto aditivo sobre cada atributo en cada ambiente. En la Tabla 3 se presentan los QTL detectados para cada uno de los caracteres considerados (TCCa, PR y Ef_G). Los efectos aditivos que se visualizan en la tabla, corresponden a los alelos del parental IS8525, mientras que los efectos de los alelos del parental R931945-2-2 mostrarían el valor opuesto. En la Fig. 5 se observan las posiciones de los QTL en los cromosomas, con los respectivos efectos sobre cada carácter en cada ambiente.

QTL con efectos aditivos importantes y consistentes fueron identificados para PR en los cromosomas 2 y 7, y para Ef_G en los cromosomas 1, 2 y 8. Para TCCa se detectó sólo un QTL en el cromosoma 9 para el ambiente 2010 con efecto y significancia bajos, este QTL no mostró consistencia en el ambiente 2011 (Tabla 3).

Tabla 3. QTL detectados para los caracteres del modelo ecofisiológico en cada uno de los dos ambientes (2010 y 2011): Tasa de crecimiento del cultivo alrededor de floración (TCCa), partición reproductiva (PR) y eficiencia de fijación de granos (Ef_G).

Análisis de QTL	Carácter	R ^{2a}	Crom ^b	Posición ^c (cM)	Efecto aditivo ^d	LOD ^e
Ambiente 2010	TCCa	0,14	9	155,81	0,074	2,55
			2	325,01	7,054	2,53
			2	372,51	-11,756	7,52
			4	60,11	-17,383	4,67
			4	121,01	15,275	3,54
			6	9,01	-10,907	12,29
	Ef _G	0,30	7	216,51	-11,318	12,44
			1	75,61	1,733	8,96
			2	372,51	-1,677	4,78
			8	0,01	1,265	5,41
			9	203,91	-1,391	3,32
Ambiente 2011	TCCa	-	-	-	-	-
			2	372,51	-12,051	8,11
			4	25,01	6,724	4,14
			7	79,71	5,966	3,73
			7	216,51	-9,495	9,56
			8	0,01	5,122	3,01
	Ef _G	0,40	1	75,61	1,519	9,03
			2	372,51	-1,302	3,75
			7	79,71	1,206	5,81
			7	216,51	-0,816	2,81
			8	0,01	1,011	4,36

^a Porcentaje de la variación fenotípica explicado por el modelo genético.

^b Número de cromosoma. ^c Posición del QTL en el cromosoma.

^d Efecto aditivo del alelo parental. ^e Logaritmo de probabilidades.

El enfoque multi-carácter multi-ambiente para el análisis de QTL permite considerar correlaciones genéticas entre caracteres. QTL ligados o pleiotrópicos con efectos consistentes sobre diferentes caracteres promueven la existencia de correlaciones genéticas. En el cromosoma 2, se observó una correlación genética positiva y consistente en ambos ambientes entre PR y Ef_G.

El porcentaje de variación genética explicada por el modelo final multi-QTL fue entre 14 a 40% de la variación de los caracteres en cada ambiente (Tabla 3). Para el carácter PR, la proporción de variación fenotípica explicada por los QTL encontrados fue de 37% en 2010 y 34% en 2011, mientras que para Ef_G, fue de 30% y 40%, en 2010 y 2011, respectivamente (Tabla 3). La homogeneidad relativa de la variancia genética explicada por el modelo multi-QTL a través de ambientes para PR y Ef_G concuerda con el hallazgo de QTL con efectos consistentes a través de ambientes.

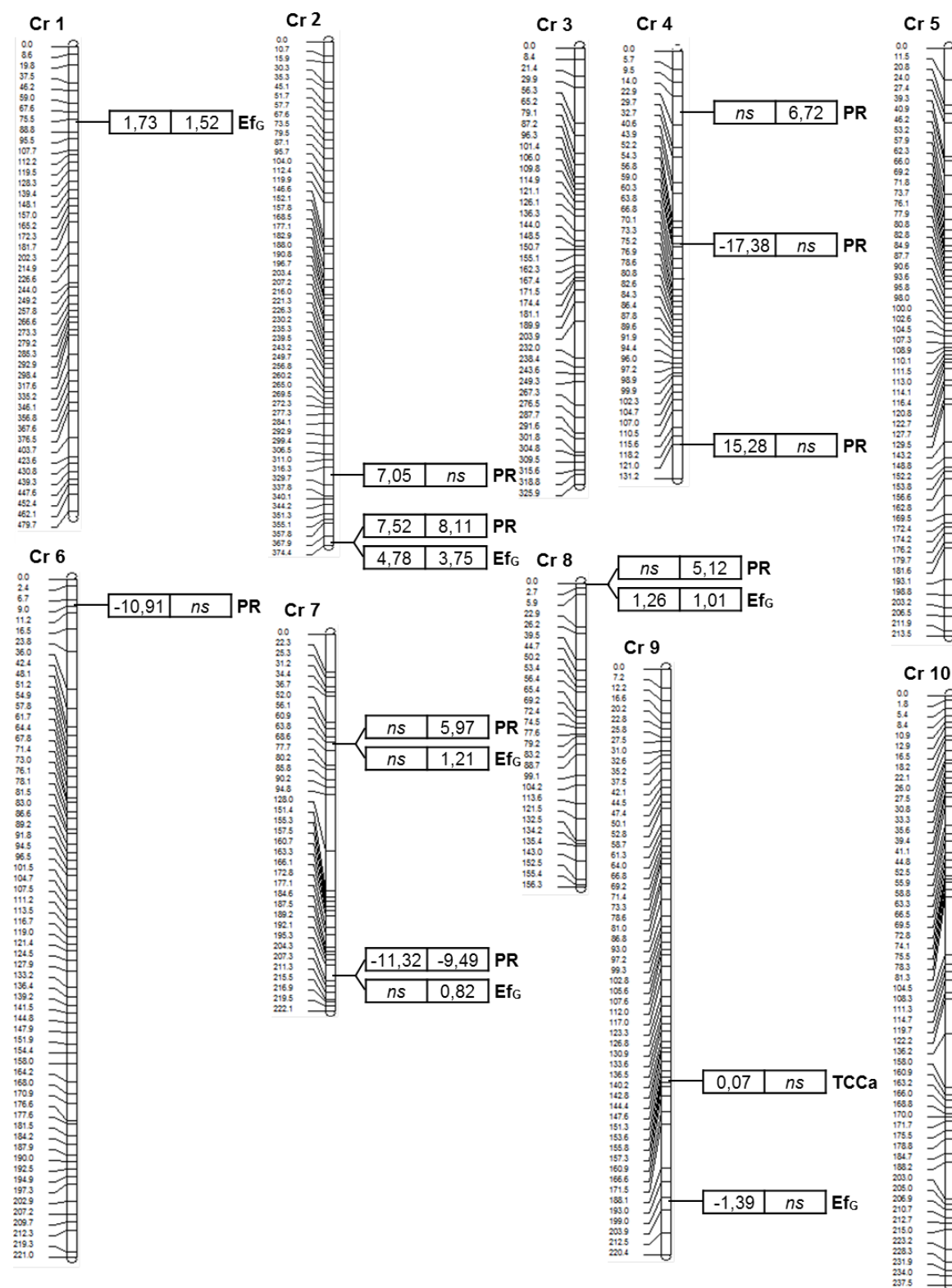


Fig 5. Localización cromosómica y efectos aditivos de los QTL detectados para tasa de crecimiento alrededor de floración (TCCa), partición reproductiva (PR) y eficiencia de fijación de granos (EfG) en los dos ambientes explorados. Los valores ubicados dentro de los recuadros representan los valores aditivos del año 2010 (primer recuadro) y 2011 (segundo recuadro).

DISCUSIÓN GENERAL

El estudio de las bases genéticas detrás de caracteres cuantitativos complejos resulta difícil debido a que los mismos suelen mostrar una importante interacción genético-ambiental. Una manera de estudiarlos implica la disección del atributo complejo en atributos más simples e independientes entre sí (Egli, 1998; Araus et al., 2002; Reynolds y Tuberosa, 2008). Uno de los beneficios de estudiar las bases genéticas de un atributo en particular a partir de un modelo eco-fisiológico es que los efectos de la interacción GxA se encuentran implícitamente considerados (Hunt et al., 1993; Messina et al., 2009). En la presente tesis se aplicó esta aproximación, y se estudió la determinación del carácter NG en sorgo a través de la disección del mismo en caracteres más simples.

La disección empleada para estudiar las bases genéticas del NG en sorgo ha sido muy utilizada previamente para explorar diferencias fenotípicas entre materiales en diversas especies (Egli, 1998; Andrade et al., 1999; Vega et al., 2001). Sin embargo, sólo hace poco se empezó a aprovechar como aproximación para estudiar las bases genéticas del NG (Amelong et al., 2012). Este enfoque propone que el NG es función de la tasa de crecimiento del cultivo alrededor de floración (TCCa), de la proporción de biomasa particionada a los órganos reproductivos de la planta (PR) y de cuantos granos se fijan por unidad de crecimiento reproductivo (Ef_G). Un aspecto relevante es que el modelo eco-fisiológico propuesto tiene en cuenta el común *trade-off* que existe entre el número de granos fijados y el peso del grano individual (Sadras, 2007; Gambín y Borrás, 2011), al considerar explícitamente al peso del grano individual como el mínimo requerimiento para fijar un grano (Egli, 1998). Es importante mencionar que tanto la PR como la Ef_G son procesos muy dinámicos y difíciles de cuantificar (Egli, 1998), y que el modelo utilizado pretende ser una simplificación que permitió su estudio en un elevado número de materiales a nivel de canopeo.

El Capítulo I muestra la existencia de variabilidad entre genotipos en TCCa, PR y Ef_G . Aunque la variación *per se* no resulte llamativa, sí lo es el hecho de que la variación que es posible encontrar entre genotipos para PR y Ef_G es muy alta cuando se la compara con la TCCa. Incluso el NG estuvo más relacionado con cambios en estos dos atributos que con cambios en la TCCa. Estos resultados son muy interesantes ya que demuestran que hay una importante variación entre genotipos en el uso de los recursos captados alrededor de floración, ya sea para destinar al crecimiento de panojas o para fijar más granos por unidad de crecimiento de panojas. En sorgo es frecuente encontrar trabajos que muestran variación en atributos ligados con el crecimiento y la captación de recursos (Blum et al., 1997; van

Oosterom y Hammer, 2008; Hammer et al., 2010; George-Jaeggli et al., 2013), mientras que los trabajos ligados con la utilización son más limitados. Aquí se muestra un rango de variación en PR y Ef_G que previamente no había sido documentada.

La PR y la Ef_G muestran mayor heredabilidad que el NG, lo que también coincide con la hipótesis planteada y el modelo propuesto. Los resultados son acordes a los encontrados por van Oosterom y Hammer (2008) y Gambín y Borrás (2013) en un menor número de genotipos, que sugerían que la PR y la Ef_G serían parámetros fenotípicamente estables. Una alta heredabilidad de los caracteres más simples detrás de la determinación del carácter complejo es sumamente importante, ya que implica reducir la incertidumbre asociada al efecto ambiental o a las interacciones genotipo x ambiente (Tardieu y Tuberosa, 2010). Asimismo, ambos caracteres no mostraron asociación negativa, lo que implica que es posible mejorar por ambos caracteres en forma simultánea.

Actualmente la altura ideal en un cultivo de sorgo es un tema de debate. A diferencia de otros cultivos como trigo (Austin et al., 1980; Gale y Youssefian, 1985; Borner et al., 1993; Flintham et al., 1997), la reducción de la altura buscada originalmente para evitar problemas de vuelco no ha sido acompañada con aumentos consistentes en los rendimientos (Hadley et al., 1965; Casady, 1967; Campbell y Casady, 1969; Campbell et al., 1975; George-Jaeggli et al., 2011). Parte de esto se debe a que la reducción de altura estuvo acompañada de reducciones en la producción de biomasa, lo que a su vez estuvo asociado a una reducción en la eficiencia de uso de la radiación (Hammer et al., 2010). Las mediciones de altura realizadas en la presente tesis confirman que en general plantas de mayor altura muestran mayor TCCa y menor PR. A diferencia de lo encontrado por otros autores (George-Jaeggli et al., 2011), el rendimiento no estuvo asociado con mayor altura de planta pero sí con mayor PR. La variabilidad encontrada tanto en TCCa como en PR para similar altura de planta sugiere que la altura ideal para sorgo debería ser aquella que maximice conjuntamente la PR y la TCCa.

La detección de QTL, con el objetivo de interpretar las bases genéticas que están presentes detrás de caracteres de interés agronómico, recibe gran atención en la genética de plantas desde finales de los años '80 (Blanc et al., 2006). La combinación del modelado ecofisiológico y el mapeo genético de QTL podría ser una poderosa herramienta para resolver las bases genéticas de caracteres complejos dependientes del ambiente, como por ejemplo, el rendimiento (Yin et al., 2005). Además, podría ser de gran utilidad para predecir el fenotipo ideal de un cultivo para ambientes particulares de producción (Hammer et al., 2005).

Una metodología estadística apropiada es altamente relevante para emprender la búsqueda de QTL. La mayoría de los estudios que involucran diferentes caracteres y/o ambientes no consideran las correlaciones entre caracteres y la variabilidad entre ambientes. El análisis de QTL multi-caracter multi-ambiente representa una herramienta valiosa que mejora el poder para detectar QTL. Permite además considerar las correlaciones entre caracteres y ambientes (Malosetti et al., 2008; Singh et al., 2012; Jiang y Zeng, 1995), proporcionando un enfoque estadístico más adecuado y realista que los análisis de QTL individuales debido a que los procesos fisiológicos se encuentran generalmente correlacionados entre sí. Esto implica que un análisis integrado de QTL proporciona información útil relativa a la determinación genética y la relación entre caracteres. La base de las correlaciones genéticas pueden ser entendidas en términos de QTL pleiotrópicos y QTL ligados para múltiples caracteres (Malosetti et al., 2008).

En el Capítulo II de la presente tesis se buscó localizar QTL para los caracteres fenotípicos que están detrás de la determinación del NG, siendo, además, un primer paso hacia la identificación de áreas cromosómicas que incluyen genes potencialmente importantes involucrados en la determinación de este carácter complejo en sorgo. Se encontraron QTL individuales y consistentes para PR y Ef_G con efecto aditivo significativo, lo que hace razonable pensar que estas regiones podrían constituir una primera aproximación para considerar incluirlas en programas de mejoramiento. Además, se verificó que existe cierta independencia entre estos caracteres. Sólo un único QTL en el cromosoma 2 co-localizó para PR y Ef_G , siendo un hallazgo interesante ya que posibilita la mejora de estos caracteres de manera independiente y da lugar a la oportunidad de pirimidizar QTL con el objetivo de lograr una mejora en el carácter cuantitativo final (NG). Sin embargo, es fundamental tener en cuenta que la expresión de este tipo de QTL frecuentemente es dependiente del entorno genético (Stuber et al., 1999) y resulta necesario validar estos QTL encontrados en otras poblaciones de mapeo antes de pensar en incluirlos en un programa de mejora.

La información genética obtenida en este estudio podría ser validada intentando predecir el NG de alguna RIL de la población bajo estudio en diferentes ambientes. El modelo ecofisiológico ha demostrado ser útil para predecir el NG en diferentes condiciones (Gambín y Borrás, 2013), y los resultados de la presente tesis generan la oportunidad de combinar el modelo ecofisiológico con un modelo genético o de QTL. Esta aproximación ha mostrado predecir adecuadamente el fenotipo para caracteres cuantitativos más simples (Reymond et al., 2003) y representa todo un desafío para caracteres más complejos (Amelong et al., 2012).

La información generada es también potencialmente muy útil para mejorar las predicciones de los modelos de simulación. Actualmente los modelos más desarrollados (por ejemplo, APSIM; Keating et al., 2003) predicen el NG teniendo en cuenta una tasa de crecimiento de planta promedio alrededor de floración y un parámetro dependiente del cultivar que describe la relación entre ambos caracteres (Rosenthal et al., 1989; Gerik et al., 2004). Hammer et al. (2010) plantea la necesidad de considerar a los destinos reproductivos en la simulación con el objetivo de aumentar la precisión de la misma. Gambín y Borrás (2013) demostraron esta mayor precisión de las estimaciones en NG en sorgo cuando se utiliza los mismos parámetros reproductivos que los estudiados en la presente tesis (PR y Ef_G) para cada genotipo. Los resultados de ésta tesis confirman la componente genética de ambos parámetros.

Se ha planteado una nueva generación en el futuro de los modelos de simulación para ser aplicados al mejoramiento de plantas (Hammer et al., 2006; Chenu et al., 2009; Messina et al., 2009). Los mismos deberían, entre otras cuestiones, proporcionar predicciones dinámicas que permitan alcanzar el fenotipo del organismo a partir de cambios en regiones genómicas. Esto revolucionaría la forma en que son tratados los caracteres complejos. La incorporación de información genética, como la obtenida en la presente tesis, podría ser fácilmente adaptada a modelos de simulación con el objetivo de aumentar la ganancia genética del cultivo.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta tesis han incrementado el conocimiento sobre las bases genéticas de la determinación del número de granos y rendimiento en sorgo a través de la identificación de QTL asociados a caracteres reproductivos secundarios ligados en su determinación (partición reproductiva y eficiencia de fijación de granos).

La población de RILs mostró variabilidad fenotípica significativa para estos caracteres reproductivos. Ambos se correlacionaron con un mayor número final de granos y presentaron mayor heredabilidad que otros caracteres, lo que demostró la validez del modelo ecofisiológico planteado.

Se detectaron QTL consistentes independientes del ambiente de crecimiento con efecto y magnitud significativa para partición reproductiva y eficiencia de fijación, lo que constituye un paso clave para la comprensión de los factores genéticos detrás de estos caracteres.

BIBLIOGRAFÍA

- Acreche, M., Briceno-Félix, G., Martín Sánchez, J.A., Slafer, G.A., 2008. Physiological bases of genetic gains in Mediterranean bread wheat yield in Spain. *European Journal of Agronomy* 28, 162-170.
- Álvarez Prado, S., López, C.G., Gambín, B.L., Abertondo, V.J., Borrás, L., 2013. Dissecting the genetic basis of physiological processes determining maize kernel weight using the IBM (B73×Mo17) Syn4 population. *Field Crops Research* 145, 33-43.
- Amelong, A., Gambín, B.L., Borrás, L. QTLs asociados a procesos fisiológicos relacionados con la determinación de número de granos en maíz. XXIX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Mar del Plata, Buenos Aires, 17-22 Septiembre 2012. Pág. 243.
- Andrade, F.H., Vega, C.R.C., Uhart, S.A., Cirilo, A.G., Cantarero, M., Valentinuz, O.R., 1999. Kernel number determination in maize. *Crop Science* 39, 453-459.
- Araus, J.L., Slafer, G.A., Reynolds, M.P., Royo, C., 2002. Plant breeding and water relations in C3 cereals: what should we breed for? *Annals of Botany - London* 89, 925-940.
- Austin, R.B., Bingham, J., Blackwell, R.D., Evans, L.T., Ford, M.A., Morgan, C.L., Taylor, M., 1980. Genetic improvements in winter wheat yields since 1900 and associated physiological changes. *Journal of Agricultural Science Cambridge* 94, 675-689.
- Austin, R. B., M. A. Ford, C. L. Morgan, 1989. Genetic improvement in the yield of winter wheat: A further evaluation. *Journal of Agricultural Science* 112, 295-301.
- Austin, D.F., Lee, M., 1998. Detection of quantitative trait loci for grain yield and yield components in maize across generations in stress and nonstress environments. *Crop Science* 38, 1296-1308.
- Barberis, N., Sánchez, C., 2013. Informe de cultivo de sorgo: evolución y perspectivas. Un análisis de las estadísticas. Estación Experimental Agropecuaria Manfredi. ISSN On line 1851-7994.
- Basten, C.J., Weir, B.S., Zeng, Z.B., 2004. QTL Cartographer, Version 1.17. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Bernardo, R., 2008. Molecular Markers and Selection for Complex Traits in Plants: Learning from the Last 20 Years. *Crop Science* 48, 1649-1664.
- Blanc, G., Charcosset, A., Mangin, B., Gallais, A., Moreau, L., 2006. Connected populations for detecting a quantitative trait loci and testing for epistasis: an application in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 113, 206-224.
- Blum, A., Golan, G., Mayer, J., Sinmena, B., 1997. The effect of dwarfing genes on sorghum grain filling from remobilized stem reserves, under stress. *Field Crops Research* 52, 43-54.

- Borevitz, J.O., Maloof, J.N., Lutes, J., Dabi, T., Redfern, J.L., Trainer, G.T., Werner, J.D., Asami, T., Berry, C.C., Weigel, D., Chory, J., 2002. Quantitative trait loci controlling light and hormone response in two accessions of *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 160, 683-696.
- Borner, A., Worland, A.J., Plaschke, J., Schumann, E., Law, C.N., 1993. Pleiotropic effects of genes for reduced height (Rht) and day-length insensitivity (PdP) on yield and its components for wheat grown in middle Europe. *Plant Breeding* 111, 204-216.
- Borrell, A.K., Hammer, G.L., Henzell, R.G., 2000. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. *Crop Science* 40, 1037-1048.
- Brown, P.J., Klein, P.E., Bortiri, E., Acharya, C.B., Rooney, W.L., Kresovich, S., 2006. Inheritance of inflorescence architecture in sorghum. *Theoretical and Applied Genetics* 113, 931-942.
- Calderini, D.F., Decreccer, M.F., Slafer, G.A., 1995. Genetic improvement in wheat yield and associated traits. A re-examination of previous results and the latest trends. *Plant Breeding* 114, 108-112.
- Campbell, L.G., Casady, A.J., 1969. Effects of a single height gene (Dw3) of *Sorghum bicolor* (L.) Moench at 1-dwarf and 2-dwarf height levels. *Crop Science* 9, 828-830.
- Campbell, L.G., Casady, A.J., Crook, W.J., 1975. Effects of a single height gene (Dw3) of sorghum on certain agronomic characters. *Crop Science* 15, 595-599.
- Casady, A.J., 1967. Effects of a single height gene (Dw3) of *Sorghum vulgare* Pers. On certain culm and leaf blade characteristics. *Crop Science* 7, 595-598.
- Chapman, S.C., Cooper, M., Hammer, G.L., Butler, D.G., 2000. Genotype by environment interactions affecting grain sorghum. II. Frequencies of different seasonal patterns of drought stress are related to location effects on hybrids yields. *Australian Journal of Agricultural Research* 51, 209-221.
- Charles-Edwards, D.A., 1984. On the ordered development of plants. 1. An hypothesis. *Annals of Botany* 53, 699-707.
- Chenu, K., Chapman, S.C., Tardieu, F., McLean, G., Welcker, C., Hammer, G.L., 2009. Simulating the yield impacts of organ-level quantitative trait loci associated with drought response in maize: 'gene-to-phenotype' modeling approach. *Genetics* 183, 1507-1523.
- Cooper, M., Messina, C., Podlich, D., Totir L.R., Baumgarten, A., Hausmann, N.J., Wright, D., Graham, G., 2014. Predicting the future of plant breeding: complementing empirical evaluation with genetic prediction. *Crop and Pasture Science* 65, 311-336.
- Doggett, H. *Sorghum*. 2nd edn. London, New York: Longman, published by Wiley, 1988.

- Duvick, D.N., Cassman, K.G., 1999. Post-green revolution trends in yield potencial of temperate maize in the north-central united states. *Crop Science* 39, 1622-1630.
- Echarte, L., Tollenaar, M., 2006. Kernel set in maize hybrids and their inbred lines exposed to stress. *Crop Science* 46, 870-878.
- Egli, D.B., 1998. Seed biology and the yield of grain crops. CAB International, 489 Wallingford, UK.
- Flintham, J.E., Borner, A., Worland, A.J., Gale, M.D., 1997. Optimizing wheat grain yield: effects of Rht (gibberellin-insensitive) dwarfing genes. *Journal of Agricultural Science Cambridge* 128, 11-25.
- Gale, M.D., Youssefian, S., 1985. Dwarfing genes in wheat. In: Russell, G.E. (Ed.), *Progress in Plant Breeding*. Butterworths, London, pp. 1-35.
- Gambín, B.L., Borrás, L., Otegui, M.E., 2006. Source–sink relations and kernel weight differences in maize temperate hybrids. *Field Crops Research* 95, 316-326.
- Gambín, B.L., Borrás, L., Otegui, M.E., 2008. Kernel weight dependence upon plant growth at different grain-filling stages in maize and sorghum. *Australian Journal of Agricultural Research* 59, 280-290.
- Gambín, B.L., Borrás, L., 2010. Resource distribution and the trade-off between seed number and seed weight: a comparison across crop species. *Annals of Applied Biology* 156, 91-102.
- Gambín, B.L., Borrás, L., 2011. Genotypic diversity in sorghum inbred lines for grain-filling patterns and other related agronomic traits. *Crop and Pasture Science* 62, 1026-1036.
- Gambín, B.L., Borrás, L., 2013. Adding genotypic differences in reproductive partitioning and grain set efficiency for estimating sorghum grain number. *Crop and Pasture Science* 64, 9-17.
- George-Jaeggli, B., 2009. The physiology and genetics of height-yield associations in sorghum (PhD Tesis). The University of Queensland, Brisbane.
- George-Jaeggli, B., Jordan, D.R., van Oosterom, E.J., Hammer, G., 2011. Decrease in sorghum grain yield due to the dw3 dwarfing gene is caused by reduction in shoot biomass. *Field Crops Research* 124, 231-239.
- George-Jaeggli, B., Jordan, D.R., Van Oosterom, E.J., Broad, I.J., Hammer, G.L., 2013. Sorghum dwarfing genes can affect radiation capture and radiation use efficiency. *Field Crops Research* 149, 283-290.
- Gerik T.J., Rosenthal W.D., Vanderlip R.L., Wade L.J., 2004. Simulating seed number in grain sorghum from increases in plant dry weight. *Agronomy Journal* 96, 1222-1230.

- Gizzi, G., Gambín, B.L. Ganancia genética en rendimiento y cambios fenotípicos en sorgo granífero en ambientes de crecimiento contrastantes. XXX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Mar del Plata, Argentina, 21-24 Septiembre 2014.
- Hadley, H.H., Freeman, J.E., Javier, E.Q., 1965. Effects of height mutations on grain yield in sorghum. *Crop Science* 5, 11-14.
- Hallauer, A.R., Miranda, J.B., 1988. *Quantitative Genetics in Maize Breeding*, 2nd edition. Iowa State University Press, Ames.
- Hammer, G.L., Carberry, P.S., Muchow, R.C., 1993. Modelling genotypic and environmental control of leaf area dynamics in grain sorghum. I. Whole plant level. *Field Crops Research* 33, 293-310.
- Hammer, G.L., Chapman, S., Van Oosterom, E., Podlich, D.W., 2005. Trait physiology and crop modelling as a framework to link phenotypic complexity to underlying genetic systems. *Australian Journal of Agricultural Research* 56, 947-960.
- Hammer, G., Cooper, M., Tardieu, F., Welch, S., Walsh, B., van Eeuwijk, F., Chapman, S., Podlich, D., 2006. Models for navigating biological complexity in breeding improved crop plants. *Trends in Plant Science* 11, 587-593.
- Hammer, G.L., van Oosterom, E., McLean, G., Chapman, S.C., Broad, I., Harland, P., Muchow, R.C., 2010. Adapting APSIM to model the physiology and genetics of complex adaptive traits in field crops. *Journal of Experimental Botany* 61, 2185-2202.
- Hunt, L.A., Pararajasingham, S., Jones, J.W., Hoogenboom, G., Imamura, D.T., Ogoshi, R.M., 1993. GENECALC. Software to facilitate the use of crop models for analyzing field experiments. *Agronomy Journal* 85, 1090-1094.
- Jiang, C., Zeng, Z.B., 1995. Multiple trait analysis of genetic mapping for quantitative trait loci. *Genetics* 140, 1111-1127.
- Kao, C.H., Zeng, Z.B., Teasdale, R.D., 1999. Multiple Interval Mapping for Quantitative Trait Loci. *Genetics*, 152, 1203-1216.
- Keating, B.A., Carberry, P.S., Hammer, G.L., Probert, M.E., Robertson, M.J., Holzworth, D., Huth, N.I., Hargreaves, J.N.G., Meinke, H., Hochman, Z., McLean, G., Verburg, K., Snow, V., Dimes, J.P., Silburn, M., Wang, E., Brown, S., Bristow, K.L., Asseng, S., Chapman, S., McCown, R.L., Freebairn, D.M., Smith, C.J., 2003. An overview of APSIM, a model designed for farming systems simulation. *European Journal of Agronomy* 18, 267-288.
- Kearsey, M.J., Pooni, H.S., 1996. *The Genetical Analysis of Quantitative Traits*. Chapman and Hall, London.
- Kosambi, D.D., 1943. The estimation of map distances from recombination values. *Annals of Human Genetics* 12, 172-175.

- Lorieux, M., 2007. Map Disto, a free user-friendly program for computing genetic maps. In: Computer Demonstration (P958) Given at the Plant and Animal Genome XV Conference, San Diego, CA, January 13-17, 2007.
- Luque, S.F., Cirilo, A.G., Otegui, M.E., 2006. Genetic gains in grain yield and related physiological attributes in Argentine maize hybrids. *Field Crops Research* 95, 383-397.
- Malosetti, M., Ribaut, J.M., Vargas, M., Crossa, J., van Eeuwijk, F.A., 2008. A multi-trait multi-environment QTL mixed model with an application to drought and nitrogen stress trials in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 161, 241–257.
- Messina, C.D., Hammer, G.L., Dong, Z., Podlich, D., Cooper, M., 2009. Modelling crop improvement in a G*E*M framework via gene-trait-phenotype relationships. In: Sadras, V., Calderini, D., eds. *Crop physiology: interfacing with genetic improvement and agronomy*. The Netherlands: Elsevier 235-265.
- Miller, C.F. II Simposio Nacional de Sorgo. Pergamino, Buenos Aires, 1 y 2 Agosto 2012.
- Pepper, G.E., Prine, G.M., 1972. Low Light Intensity Effects on Grain Sorghum at Different Stages of Growth. *Crop Science* 12, 590-593.
- Podlich, D.W., Winkler, C.R., Cooper, M., 2004. Mapping as you go: An effective approach for marker-assisted selection of complex traits. *Crop Science* 44, 1560-1571.
- Rami, J.F., Dufour, P., Trouche, G., Fliedel, G., Mestres, C., Davrieux, F., Blanchard, P., Hamon, P., 1998. Quantitative trait loci for grain quality, productivity, morphological and agronomical traits in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Theoretical and Applied Genetics* 97, 605-616.
- Reymond, M., Muller, B., Leonardo, A., Charcosset, A., Tardieu, F., 2003. Combining quantitative trait loci analysis and ecophysiological model to analyze the genetic variability of the responses of maize leaf growth to temperature and water deficit. *Plant Physiology* 131, 664-675.
- Reynolds, M., Tuberosa, R., 2008. Translational research impacting on crop productivity in drought-prone environments. *Current Opinion in Plant Biology* 11, 171-179.
- Rooney, W.L., 2004. Sorghum Improvement-Integrating traditional and new technology to produce improved genotypes. *Advances in Agronomy* 83, 37-109.
- Rosenthal W.D., Vanderlip R.L., Jackson B.S., Arkin G.F., 1989. 'SORKAM: A grain sorghum crop growth model.' Miscellaneous Publication MP-1669. (Texas Agricultural Experiment Station: College Station, TX).
- Sadras, V.O., 2007. Evolutionary aspects of the trade-off between seed size and number in crops. *Field Crops Research* 100, 125-138.

- Sadras, V.O., Lawson, C., 2011. Genetic gain in yield and associated changes in phenotype, trait plasticity and competitive ability of South Australian wheat varieties released between 1958 and 2007. *Crop and Pasture Science* 62, 533-549.
- Sadras, V.O., Lawson, C., 2012. Nitrogen and water-use efficiency of Australian wheat varieties released between 1958 and 2007. *European Journal of Agronomy* 46, 34-41.
- Saeed, M., Francis, C.A., Clegg, M.D., 1986. Yield components analysis in grain sorghum. *Crop Science* 26, 346-351.
- SAS Institute, 1999. The SAS Online Doc v. 8. SAS Institute, Cary, NC.
- Schwarz, G., 1978. Estimating the dimension of a model. *The Annals of Statistics* 6, 461-464.
- Singh, S., Hernandez, M.V., Crossa, J., Singh, P.K., Bains, N.S., Singj, K., Sharma, I., 2012. Multi-Trait and Multi-Environment QTL Analyses for Resistance to Wheat Diseases. *PLoS ONE* 7, 1-12.
- Slafer, G.A., 2003. Genetic basis of yield as viewed from a crop physiologist's perspective. *Annals of Applied Biology* 142, 117-128.
- Slafer, G.A., Andrade, F.H., 1989. Genetic improvement in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) yield in Argentina. *Field Crops Research* 21, 289-296.
- Soil Survey Staff (2010) 'Keys to soil taxonomy.' 11th edn (USDA/NRCS: Washington, DC).
- Srinivas, G., Satish, K., Madhusudhana, R., Nagaraja Reddy, R., Murali Mohan, S., Seetharama, N., 2009. Identification of quantitative trait loci (QTL) for agronomically important traits and their association with genic-microsatellite markers in sorghum. *Theoretical and Applied Genetics* 118, 1439-1454.
- Stickler, F.C., Pauli, A.W., 1961. Influence of data of planting on yield and yield components in grain sorghum. *Agronomy Journal* 31, 21-22.
- Stuber, C.W., Polacco, M., Lynn Senior, M., 1999. Synergy of empirical breeding, marker-assisted selection, and genomics to increase crop yield potential. *Crop Science* 39, 1571-1583.
- Tardieu, F., 2003. Virtual plants: Modelling as a tool for the genomics of tolerance to water deficit. *Trends in Plant Science* 8:9-14
- Tardieu, F., Tuberosa, R., 2010. Dissection and modelling of abiotic stress tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 13, 206-212.
- van Oosterom, E.J., Hammer, G.L., 2008. Determination of grain number in sorghum. *Field Crops Research* 108, 259-268.

- Vega, C.R.C., Andrade, F.H., Sadras, V.O., 2001. Reproductive partitioning and seed set efficiency in soybean, sunflower and maize. *Field Crops Research* 72, 163-175.
- Wang, S., Basten, C.J., Zeng, Z.B., 2011. Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Yin, X., Struik, P.C., van Eeuwijk, F.A., Stam, P., Tang, J., 2005. QTL analysis and QTL-based prediction of flowering phenology in recombinant inbred lines of barley. *Journal of Experimental Botany* 56, 967-976.
- Zalapa, J.E., Staub, J.E., McCreight, J.D., Chung, S.M., Cuevas, H., 2007. Detection of QTL for yield-related traits using recombinant inbred lines derived from exotic and elite US western shipping melon germplasm. *Theoretical and Applied Genetics* 114, 1185-1201.